

## СОДЕРЖАНИЕ PGC-1 $\alpha$ В РАЗЛИЧНЫХ СУБПОПУЛЯЦИЯХ CD4<sup>+</sup>T-ЛИМФОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА

Власова В.В., Шмагель Н.Г.

*Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук – филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр» Уральского отделения Российской академии наук, г. Пермь, Россия*

**Резюме.** Популяция CD4<sup>+</sup>T-лимфоцитов является гетерогенной и объединяет клетки с различными функциями. На функциональную активность отдельных субпопуляций CD4<sup>+</sup>T-лимфоцитов значительное влияние оказывает регуляция энергетического метаболизма клетки. В наивных CD4<sup>+</sup>T-лимфоцитах, CD4<sup>+</sup>T-клетках центральной и эффекторной памяти, а также CD4<sup>+</sup> терминальных эффекторах здоровых людей методом проточной цитофлуориметрии проведена оценка содержания транскрипционного коактиватора PGC-1 $\alpha$  – регулятора окислительного фосфорилирования в клетке. Установлено, что PGC-1 $\alpha$  экспрессируется во всех CD4<sup>+</sup>T-лимфоцитах. Как среди конвенциональных, так и среди регуляторных клеток было обнаружено повышенное содержание PGC-1 $\alpha$  в субпопуляциях CD4<sup>+</sup>T-лимфоцитов центральной памяти, эффекторной памяти и терминальных эффекторах при их сравнении с наивными клетками. При этом содержание транскрипционного коактиватора в конвенциональных CD4<sup>+</sup>T-клетках оказалось выше, чем в регуляторных CD4<sup>+</sup>T-лимфоцитах. Полученные результаты свидетельствуют о том, что конвенциональные и регуляторные CD4<sup>+</sup>T-клетки в разной степени зависят от присутствия транскрипционного коактиватора PGC-1 $\alpha$ . По-видимому, PGC-1 $\alpha$  является важным, но не единственным регулятором функционального состояния митохондрий регуляторных CD4<sup>+</sup>T-лимфоцитов.

*Ключевые слова:* регуляторные CD4<sup>+</sup>T-лимфоциты, PGC-1 $\alpha$ , конвенциональные CD4<sup>+</sup>T-лимфоциты, CD4<sup>+</sup>T-лимфоциты памяти, проточная цитометрия

## PGC-1 $\alpha$ IN HUMAN CD4<sup>+</sup>T CELL SUBSETS

Vlasova V.V., Shmagel N.G.

*Institute of Ecology and Genetic of Microorganisms, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Branch of Perm Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Perm, Russian Federation*

**Abstract.** CD4<sup>+</sup>T lymphocyte pool is heterogeneous in nature consisting of distinct subsets. The functional activity of each subset is highly influenced by how its energy metabolism is controlled. In naïve, central memory, effector memory, and TEMRA CD4<sup>+</sup>T cells received from healthy volunteers aged 29–42 years we evaluated the level of the major cell energy metabolism regulator: transcriptional coactivator PGC-1 $\alpha$ . PGC-1 $\alpha$  was shown to be expressed in all CD4<sup>+</sup>T cells. Its level in central memory, effector memory, and TEMRA cells was higher than that in naïve cells for both conventional and regulatory CD4<sup>+</sup>T lymphocytes. Moreover, its level was found to be higher in conventional when compared with regulatory CD4<sup>+</sup>T cells. Our findings suggest that regulatory

### Адрес для переписки:

Власова Виолетта Викторовна  
Институт экологии и генетики микроорганизмов  
Уральского отделения Российской академии наук  
614081, Россия, г. Пермь, ул. Голева, 13.  
Тел.: 8 (324) 280-92-11.  
E-mail: violetbaudelaire73@gmail.com

### Address for correspondence:

Vlasova Violetta V.  
Institute of Ecology and Genetic of Microorganisms, Ural  
Branch, Russian Academy of Sciences  
614081, Russian Federation, Perm, Golev str., 13.  
Phone: 7 (324) 280-92-11.  
E-mail: violetbaudelaire73@gmail.com

### Образец цитирования:

В.В. Власова, Н.Г. Шмагель «Содержание PGC-1 $\alpha$  в различных субпопуляциях CD4<sup>+</sup>T-лимфоцитов человека» // Российский иммунологический журнал, 2020. Т. 23, № 2. С. 115–118.  
doi: 10.46235/1028-7221-348-PIH  
© Власова В.В., Шмагель Н.Г., 2020

### For citation:

V.V. Vlasova, N.G. Shmagel “PGC-1 $\alpha$  in human CD4<sup>+</sup>T cell subsets”, Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2020, Vol. 23, no. 2, pp. 115–118.  
doi: 10.46235/1028-7221-348-PIH  
DOI: 10.46235/1028-7221-348-PIH

and conventional CD4<sup>+</sup>T cells rely on PGC-1 $\alpha$  to a different extent. Apparently, PGC-1 $\alpha$  is an important but not the only factor influencing the functional state of mitochondria in regulatory CD4<sup>+</sup>T lymphocytes.

*Keywords: regulatory CD4<sup>+</sup>T cells, PGC-1 $\alpha$ , conventional CD4<sup>+</sup>T cells, memory CD4<sup>+</sup>T cells, flow cytometry*

Работа выполнена в рамках государственного задания «Механизмы регуляции иммунной системы» (номер госрегистрации темы АААА-А19-119112290007-7) с использованием оборудования ЦКП «Исследования материалов и вещества» ПФИЦ УРО РАН.

## Введение

T-лимфоциты, экспрессирующие коактивационную молекулу CD4, представляют собой гетерогенную популяцию, в которую входят наивные лимфоциты, клетки центральной и эффекторной памяти, а также терминально-дифференцированные клетки [6]. Кроме того, в каждой субпопуляции можно выделить конвенциональные и регуляторные CD4<sup>+</sup>T-лимфоциты [9]. Известно, что функциональная активность отдельных субпопуляций CD4<sup>+</sup>T-клеток определяется особенностями их метаболического профиля. Так, в покое все CD4<sup>+</sup>T-лимфоциты получают энергию преимущественно путем окислительного фосфорилирования в дыхательной цепи митохондрий. Однако CD4<sup>+</sup>T-клетки памяти и наивные клетки имеют неодинаковые энергетические запросы и, соответственно, разную активность электрон-транспортной цепи [1]. Для поддержания разнообразных функций CD4<sup>+</sup>T-клеток необходим строгий контроль окислительного фосфорилирования посредством транскрипционной и посттранскрипционной регуляции.

Одним из ключевых факторов, регулирующих синтез АТФ в дыхательной цепи митохондрий, является транскрипционный коактиватор PGC-1 $\alpha$  (peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator-1-alpha – коактиватор-1-альфа гамма-рецептора, активируемого пролифератором пероксисом) [2]. К его функциям относятся биогенез митохондрий [12], регуляция транспорта жирных кислот и глюкозы [3] и контроль экспрессии генов, кодирующих компоненты электрон-транспортной цепи, а также ферменты цикла трикарбоновых кислот и  $\beta$ -окисления жирных кислот [7, 11, 12]. **Целью данного исследования** являлось определение содержания транскрипционного коактиватора PGC-1 $\alpha$  в различных субпопуляциях регуляторных и конвенциональных CD4<sup>+</sup>T-лимфоцитов здоровых людей.

## Материалы и методы

План исследования был утвержден этическим комитетом (рег. № IRB00008964). Каждый

обследованный предоставил письменное информированное согласие на участие в исследовании. В периферической крови относительно здоровых добровольцев (n = 23) в возрасте 29-42 лет определяли содержание регуляторных CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>low</sup>FoxP3<sup>+</sup>T-лимфоцитов и конвенциональных (FoxP3<sup>-</sup>) CD4<sup>+</sup>T-клеток. Анализировали их субпопуляционный состав: наивные (CD45RA<sup>+</sup>CCR7<sup>+</sup>), центральной памяти (CD45RA<sup>-</sup>CCR7<sup>+</sup>), эффекторной памяти (CD45RA<sup>-</sup>CCR7<sup>-</sup>), терминально-дифференцированные (TEMRA; CD45RA<sup>+</sup>CCR7<sup>-</sup>). Содержание PGC-1 $\alpha$  определяли с использованием анти-PGC-1 $\alpha$  антител.

В выборке рассчитывали медиану, интерквартильный размах (25-75 перцентиль) и 10-90%-ные интервалы. Значимость различий между группами устанавливали с помощью U-критерия Манна–Уитни и W-критерия Вилкоксона. Статистические расчеты и построение графиков осуществляли с использованием программного обеспечения Statistica 6.0.

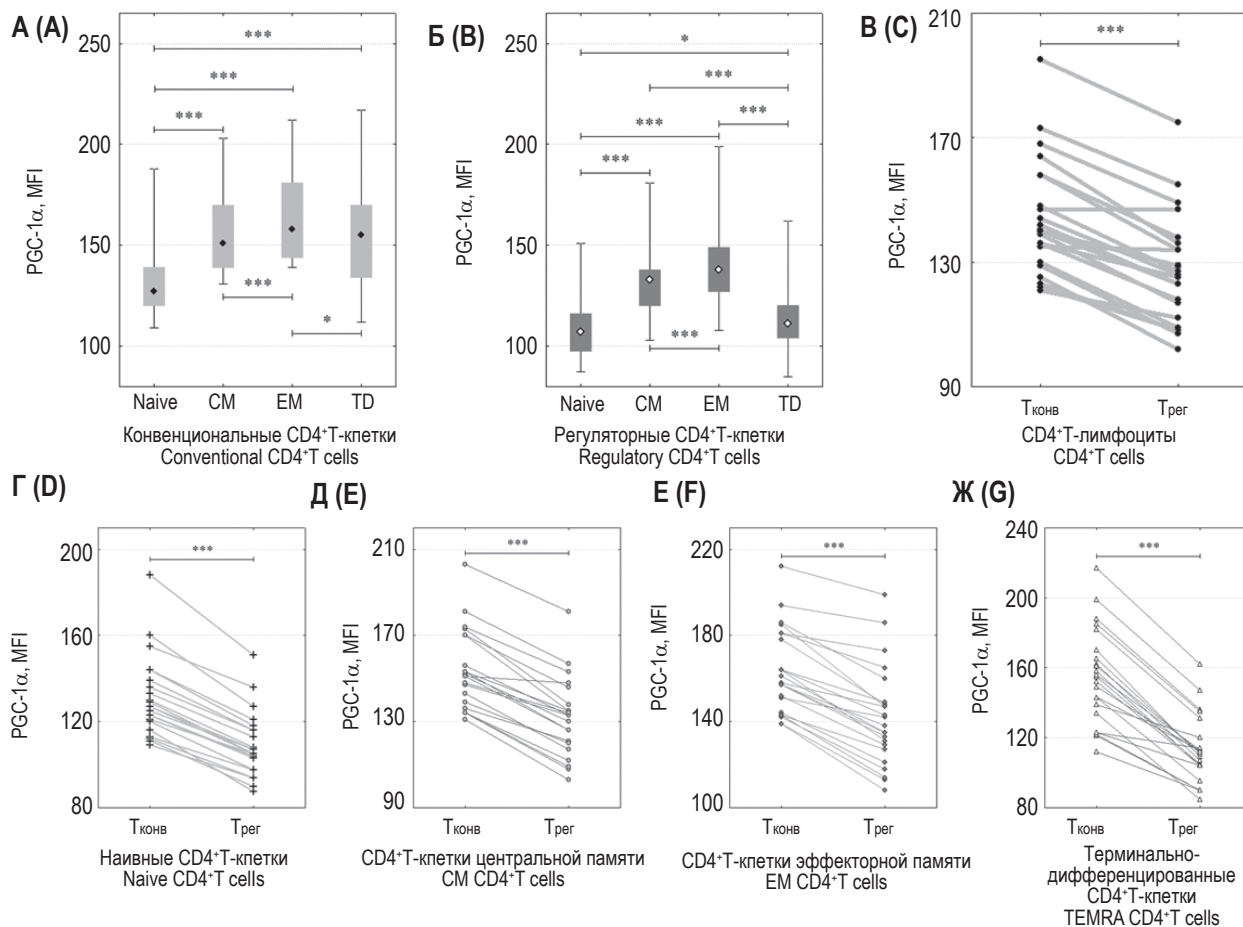
## Результаты и обсуждение

Проведенное исследование показало, что конвенциональные CD4<sup>+</sup>T-лимфоциты содержат больше транскрипционного коактиватора, чем регуляторные T-клетки (p < 0,001). Кроме того, в каждой субпопуляции CD4<sup>+</sup>T-лимфоцитов количество PGC-1 $\alpha$  было выше в конвенциональных T-клетках, чем в регуляторных T-лимфоцитах того же донора (p < 0,001; рис. 1В-Ж).

Важно отметить, что CD4<sup>+</sup>T-лимфоциты различной степени дифференцировки также отличаются по экспрессии PGC-1 $\alpha$ . Как среди конвенциональных, так и среди регуляторных CD4<sup>+</sup>T-лимфоцитов наименьшее содержание PGC-1 $\alpha$  было отмечено в пуле наивных T-клеток, а максимальное – в пуле клеток эффекторной памяти (рис. 1А, Б). Среди регуляторных CD4<sup>+</sup>T-лимфоцитов клетки центральной памяти, при их сравнении с терминально-дифференцированными T-клетками, характеризовались более высоким уровнем экспрессии PGC-1 $\alpha$  (p < 0,001; рис. 1Б).

В пуле конвенциональных T-лимфоцитов отличий между этими двумя субпопуляциями обнаружено не было.

Повышенное содержание PGC-1 $\alpha$  в субпопуляциях CD4<sup>+</sup>T-лимфоцитов памяти объясняет обнаруженные ранее различия между морфо-



**Рисунок 1. Уровень PGC-1 $\alpha$  в конвенциональных (T<sub>conv</sub>) и регуляторных (T<sub>reg</sub>) клетках различных субпопуляций CD4<sup>+</sup>T-лимфоцитов**

**Примечание.** А, Б – содержание PGC-1 $\alpha$  в наивных Т-клетках (naive), клетках центральной памяти (CM), клетках эффекторной памяти (EM), терминально-дифференцированных Т-лимфоцитах (TD). Представлены медианы (точки внутри прямоугольников), интерквартильные размахи (прямоугольники) и 10-90%-ные интервалы (вертикальные отрезки); \* – p < 0,05; \*\*\* – p < 0,001 (U-критерий Манна–Уитни). В, Г, Д, Е, Ж – количество PGC-1 $\alpha$  в конвенциональных и регуляторных CD4<sup>+</sup>T-клетках на разных стадиях дифференцировки; линии соединяют показатели одного донора; \*\*\* – p < 0,001 (W-критерий Вилкоксона). MFI: Median Fluorescence Intensity (англ.) – средняя яркость флуоресценции.

Figure 1. PGC-1 $\alpha$  levels in different subsets of conventional (T<sub>conv</sub>) and regulatory (T<sub>reg</sub>) CD4<sup>+</sup>T cells

Note. A, B, PGC-1 $\alpha$  levels in naive, central memory (CM), effector memory (EM) and TEMRA cells. Medians (dots inside of bars), interquartile ranges (bars) and 10-90% intervals (whiskers) are shown; \*, p < 0,05; \*\*\*, p < 0,001 (Mann-Whitney U test). C, D, E, F, G, PGC-1 $\alpha$  levels in conventional and regulatory CD4<sup>+</sup>T cells of different subsets; the lines are connecting the values of one donor, \*\*\* – p < 0,001 (Wilcoxon signed-rank test). MFI: Median Fluorescence Intensity.

функциональными показателями митохондрий в разных субпопуляциях CD4<sup>+</sup>T-клеток [1]. Авторы продемонстрировали, что для CD4<sup>+</sup>T-лимфоцитов памяти, при их сравнении с наивными клетками, характерны удлиненная и разветвленная форма митохондрий, усиленная экспрессия компонентов дыхательной цепи и, как следствие, активный синтез АТФ путем окислительного фосфорилирования. Однако регуляторные CD4<sup>+</sup>T-лимфоциты также обладают повышенной относительно конвенциональных клеток активностью электрон-транспортной цепи. Кроме того, регуляторные CD4<sup>+</sup>T-клетки

в меньшей степени зависят от гликолиза и преимущественно используют энергию  $\beta$ -окисления жирных кислот в митохондриях для синтеза АТФ [8]. При этом полученные нами данные свидетельствуют о том, что уровень PGC-1 $\alpha$  в регуляторных клетках значительно ниже, чем в конвенциональных CD4<sup>+</sup>T-лимфоцитах. Причиной несоответствия между усиленным окислительным фосфорилированием и относительно низким содержанием PGC-1 $\alpha$  в регуляторных CD4<sup>+</sup>T-лимфоцитах может служить следующее. Помимо PGC-1 $\alpha$ , на активность дыхательной цепи митохондрий в регуляторных CD4<sup>+</sup>T-

клетках могут оказывать влияние другие факторы. Так, белок FoxP3 (forkhead box P3) индуцирует экспрессию генов, кодирующих комплексы I, II и III дыхательной цепи митохондрий, в регуляторных CD4<sup>+</sup>T-лимфоцитах [5]. Кроме того, на интенсивность окислительного фосфорилирования и количество клеточного АТФ в регуля-

торных клетках прямо влияет содержание киназы LKB1 (liver kinase B1) [4]. Таким образом, транскрипционный коактиватор PGC-1 $\alpha$ , несмотря на важную роль в контроле митохондриального пути синтеза АТФ, не является единственным фактором, стимулирующим окислительное фосфорилирование в регуляторных CD4<sup>+</sup>T-лимфоцитах.

## Список литературы / References

1. Dimeloe S., Mehling M., Frick C., Loeliger J., Bantug G.R., Sauder U., Fischer M., Belle R., Develioglu L., Tay S., Langenkamp A., Hess C. The Immune-metabolic basis of effector memory CD4<sup>+</sup> T cell function under hypoxic conditions. *J. Immunol.*, 2016, Vol. 196, no. 1, pp. 106-114.
2. Feige J.N., Auwerx J. Transcriptional coregulators in the control of energy homeostasis. *Trends Cell Biol.*, 2007, Vol. 17, no. 6, pp. 292-301.
3. Handschin C., Spiegelman B.M. Peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  coactivator 1 coactivators, energy homeostasis, and metabolism. *Endocr. Rev.*, 2006, Vol. 27, no. 7, pp. 728-735.
4. He N., Fan W., Henriquez B., Yu R.T., Atkins A.R., Liddle C., Zheng Y., Downes M., Evans R.M. Metabolic control of regulatory T cell (Treg) survival and function by Lkb1. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2017, Vol. 114, no. 47, pp. 12542-12547.
5. Howie D., Cobbold S.P., Adams E., Ten Bokum A., Necula A.S., Zhang W., Huang H., Roberts D.J., Thomas B., Hester S.S., Vaux D.J., Betz A.G., Waldmann H. FOXP3 drives oxidative phosphorylation and protection from lipotoxicity. *JCI insight*, 2017, Vol. 2, no. 3, e89160. doi: 10.1172/jci.insight.89160.
6. Jameson S.C., Masopust D. Understanding subset diversity in T cell memory. *Immunity*, 2018, Vol. 48, no. 2, pp. 214-226.
7. Lehman J.J., Barger P.M., Kovacs A., Saffitz J.E., Medeiros D.M., Kelly D.P. Peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  coactivator-1 promotes cardiac mitochondrial biogenesis. *J. Clin. Invest.*, 2000, Vol. 106, no. 7, pp. 847-856.
8. Michalek R.D., Gerriets V.A., Jacobs S.R., Macintyre A.N., MacIver N.J., Mason E.F., Sullivan S.A., Nichols A.G., Rathmell J.C. Cutting edge: Distinct Glycolytic and lipid oxidative metabolic programs are essential for effector and regulatory CD4<sup>+</sup>T cell subsets. *J. Immunol.*, 2011, Vol. 186, no. 6, pp. 3299-3303.
9. Sakaguchi S., Sakaguchi N., Asano M., Itoh M., Toda M. Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor  $\alpha$ -chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases. *J. Immunol.*, 1995, Vol. 155, no. 3, pp. 1151-1164.
10. Sena L.A., Li S., Jairaman A., Prakriya M., Ezponda T., Hildeman D.A., Wang C.-R., Schumacker P.T., Licht J.D., Perlman H., Bryce P.J., Chandel N.S. Mitochondria are required for antigen-specific T cell activation through reactive oxygen species signaling. *Immunity*, 2013, Vol. 38, no. 2, pp. 225-236.
11. Vega R.B., Huss J.M., Kelly D.P. The coactivator PGC-1 cooperates with peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$  in transcriptional control of nuclear genes encoding mitochondrial fatty acid oxidation enzymes. *Mol. Cell. Biol.*, 2000, Vol. 20, no. 5, pp. 1868-1876.
12. Wu Z., Puigserver P., Andersson U., Zhang C., Adelmant G., Mootha V., Troy A., Cinti S., Lowell B., Scarpulla R.C., Spiegelman B.M. Mechanisms controlling mitochondrial biogenesis and respiration through the thermogenic coactivator PGC-1. *Cell*, 1999, Vol. 98, no. 1, pp. 115-124.

### Авторы:

**Власова В.В.** — лаборант лаборатории экологической иммунологии, Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук — филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр» Уральского отделения Российской академии наук, г. Пермь, Россия

**Шмагель Н.Г.** — д.м.н., старший научный сотрудник лаборатории экологической иммунологии, Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук — филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр» Уральского отделения Российской академии наук, г. Пермь, Россия

### Authors:

**Vlasova V.V.**, Assistant, Laboratory of Ecological Immunology, Institute of Ecology and Genetic of Microorganisms, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Branch of Perm Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Perm, Russian Federation

**Shmagel N.G.**, PhD, MD (Medicine), Senior Research Associate, Laboratory of Ecological Immunology, Institute of Ecology and Genetic of Microorganisms, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Branch of Perm Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Perm, Russian Federation

Поступила 11.06.2020  
Принята к печати 06.07.2020

Received 11.06.2020  
Accepted 06.07.2020